

TÌM HIỂU ẢNH HƯỞNG CỦA GIBERELIN LÊN SỰ TĂNG TRƯỞNG Ở VI TẢO *CHAETOCEROS LAUDERI* RALFS

Nguyễn Thị Kim Ánh*, Lê Thị Trung†

1. Giới thiệu

Vài năm trở lại đây, nghề nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam phát triển rất mạnh. Nhiều công trình nghiên cứu về sản xuất giống ở các loài ốc hương, sò điệp, trai ngọc, một số loài cá biển đã thành công và có triển vọng lớn [6]. Vi tảo là một mắt xích quan trọng trong chuỗi thức ăn của nhiều loài sinh vật biển và tạo ra năng suất sơ cấp cho các thủy vực [1]. Việc nghiên cứu nuôi tảo làm thức ăn tươi sống cho động vật thủy sản nói chung được bắt đầu từ hai thập kỉ trước.

Chúng tôi đã tiến hành phân lập một số loài vi tảo thuộc vùng biển Cần Giờ và khảo sát ảnh hưởng của một số điều kiện môi trường lên sự sinh trưởng của các loài phân lập được. Kết quả cho thấy loài *Chaetoceros lauderi* Ralfs phát triển tốt trên môi trường f/2 [2], dưới điều kiện ánh sáng 3.000 lux \pm 500, nhiệt độ 25 °C \pm 2, chu kì sáng tối 12:12, độ ẩm 60- 67 %, pH \approx 8.

Theo đó, chúng tôi bước đầu tìm hiểu ảnh hưởng của gibberelin lên sự tăng trưởng ở vi tảo này.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Chaetoceros lauderi Ralfs phân lập được từ nước biển Cần Giờ (12/2006).

2.2. Phương pháp

Mẫu vi tảo được nuôi theo phương pháp bán liên tục trong bình tam giác 500 ml chứa 250 ml môi trường f/2 có bổ sung gibberelin với các nồng độ: 10^{-6} g/l, 10^{-7} g/l, 10^{-8} g/l và 10^{-9} g/l. Mỗi ngày lấy 50 ml dịch nuôi tảo, bổ sung lại vào dịch nuôi 50 ml môi trường tương ứng. Các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

Điều kiện phòng nuôi: nhiệt độ 25 °C \pm 2, cường độ ánh sáng 3.000 lux \pm 500, chu kì sáng tối 12:12, độ ẩm 60- 67 %, pH # 8.

Quan sát sự thay đổi hình thái vi tảo bằng kính hiển vi quang học.

* Học viên cao học, Trường ĐH KHTN Tp. HCM

† TS. – Trường ĐHSPTP. HCM

Xác định đường cong tăng trưởng bằng phương pháp đếm tế bào dưới buồng đếm hồng cầu (Guillard, Sieracki, 2005).

Tốc độ tăng trưởng được tính theo công thức: $r = \frac{\ln(N_2 / N_1)}{t_2 - t_1} \cdot \text{ngày}^{-1}$

Với r : tốc độ tăng trưởng

t_1, t_2 : hai thời điểm trên đường cong tăng trưởng

N_1, N_2 : mật độ tế bào ở các thời điểm tương ứng (Wood *et al.*, 2005).

Hàm lượng diệp lục tố có trong mẫu được trích và đo theo phương pháp quang phổ [4].

Xác định cường độ quang hợp/hô hấp của dịch nuôi tảo dựa vào lượng oxygen thải ra/tiêu thụ ở một thể tích nhất định trong khoảng thời gian xác định [8]. Lượng oxygen thay đổi trong mẫu được đo bằng điện cực oxygen Clark (Hansatech Instruments, Norfolk, UK). Cường độ quang hợp/hô hấp theo đơn vị tế bào được tính dựa trên cường độ quang hợp/hô hấp của một thể tích mẫu (1,5 ml) và mật độ tế bào trong mẫu đo. Quang hợp được đo dưới ánh sáng 3000 lux \pm 500, hô hấp được đo trong tối.

Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Các số liệu được xử lý thống kê bằng chương trình SPSS phiên bản 11.5 dùng cho Windows.

3. Kết quả và thảo luận

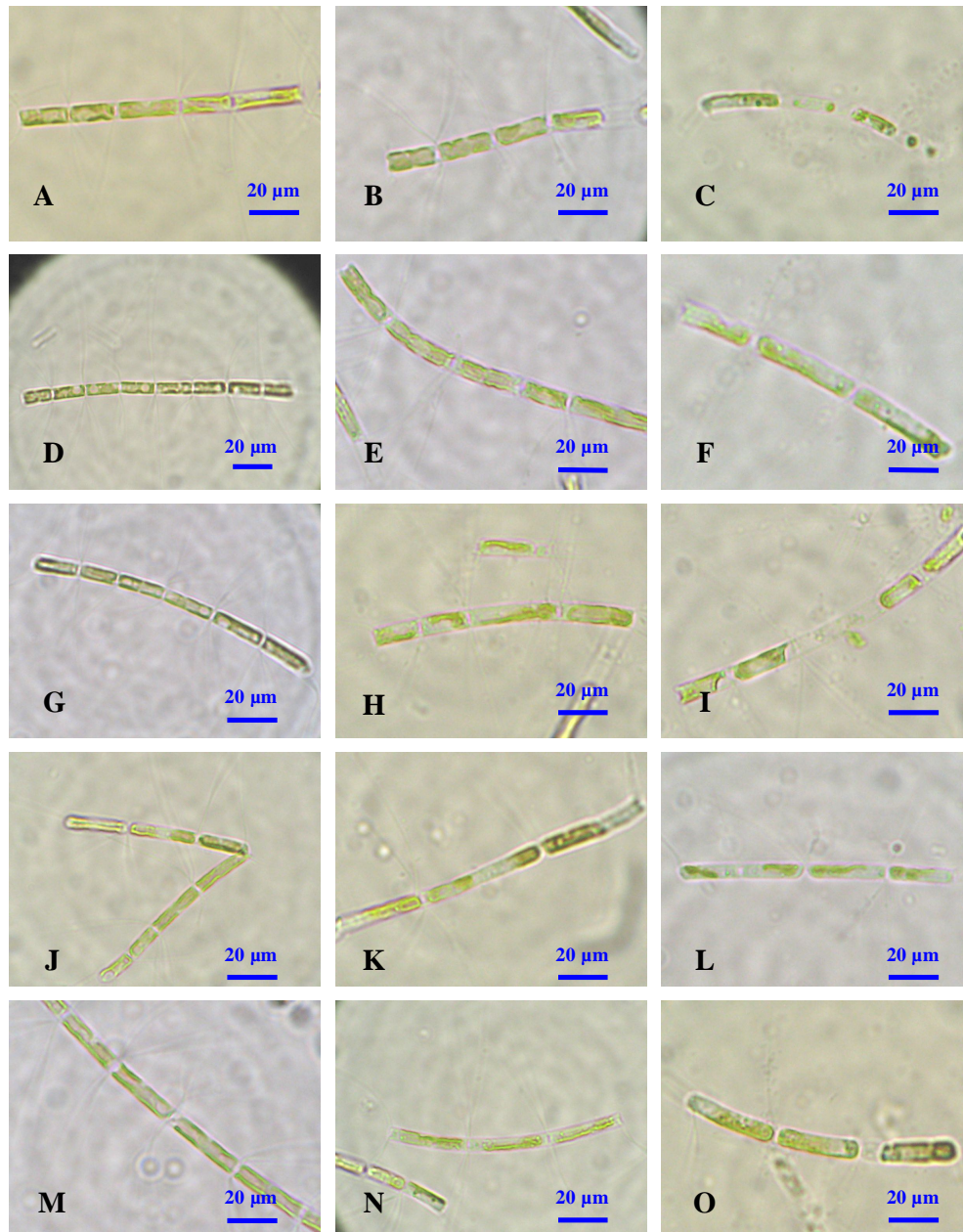
3.1. Ảnh hưởng của giberelin lên hình thái *C. lauderi* Ralfs

Trong những ngày đầu sau cấy chuyên, hình thái *C. lauderi* ở các môi trường có bổ sung giberelin ít có sự khác biệt so với chuẩn (hình 1 A, D, G, J, M).

Ở ngày thứ 6, đã xuất hiện sự sai khác về hình thái vi tảo. Tế bào trong các môi trường bổ sung giberelin có kích thước kéo dài hơn so với chuẩn (hình 1 B, E, H, K, N). Kết quả này có thể do đặc tính kích thích kéo dài tế bào của giberelin [9].

Ngày thứ 8, trong môi trường chuẩn (f/2) đã xuất hiện nhiều tế bào bị mất sắc tố (hình 1 C). Kết quả cũng tương tự ở môi trường có GA 10^{-7} g/l, GA 10^{-8} g/l (hình 1 C, I, L). Tuy nhiên, trong môi trường có GA 10^{-6} g/l và G 10^{-9} g/l, thể sắc tố trong tế bào vẫn chiếm thể tích lớn và đậm màu (hình 1 F, O).

Như vậy, có thể thấy rằng gibberelin có tác dụng kéo dài tế bào vi tảo *C. lauderi* ở các nồng độ, đồng thời duy trì tốt thể sắc tố tế bào ở nồng độ 10^{-6} g/l và 10^{-9} g/l.



Hình 1. Hình thái *C. lauderi* dưới ảnh hưởng của gibberelin ở các nồng độ khác nhau

A, B, C môi trường f/2, các ngày 4, 6, 8.

D, E, F : môi trường GA 10^{-6} g/l, các ngày 4, 6, 8.

G, H, I : môi trường GA 10^{-7} g/l, các ngày 4, 6, 8.

J, K, L: môi trường GA 10^{-8} g/l, các ngày 4, 6, 8.

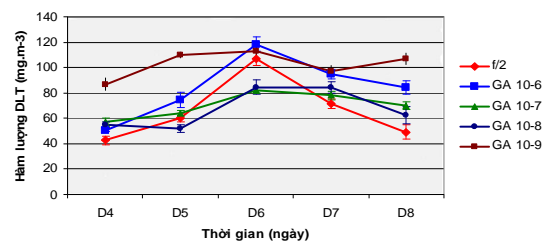
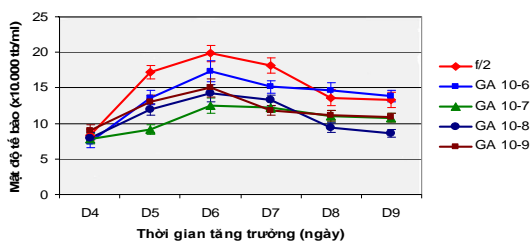
M, N, O: môi trường GA 10^{-9} g/l, các ngày 4, 6, 8.

3.2. Ảnh hưởng của giberelin lên đường cong tăng trưởng và tốc độ tăng trưởng

Đối với vi tảo, hoạt tính giberelin đã được xác định trong dịch trích từ tảo và môi trường nuôi tảo lam *Spirulina platensis* [5]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về giberelin ở tảo silic chủ yếu ở dạng ngoại sinh.

Nhìn chung, *C. lauderi* trong các môi trường bổ sung giberelin đều cho đường cong tăng trưởng thấp hơn so với chuẩn và đều có dạng chữ S. Đặc biệt, vi tảo trong môi trường GA 10^{-7} g/l cho mật độ thấp nhất, pha suy vong chậm và kéo dài (hình 2). Kết quả này có thể do giberelin thường tạo ra các điều kiện nghèo kiệt trong môi trường nuôi [7]. Nguồn dinh dưỡng bị hạn chế nên vi tảo giảm tốc độ phân chia tế bào, dẫn đến mật độ tế bào thấp hơn so với chuẩn.

Đồng thời, dựa vào kết quả đo hàm lượng diệp lục tố kết hợp với quan sát hình thái vi tảo, có thể thấy rằng giberelin ở các nồng độ có tác dụng kéo dài kích thước tế bào. Môi trường có GA 10^{-6} g/l và GA 10^{-9} g/l giúp duy trì trạng thái của thể sắc tố tốt hơn so với chuẩn. Thể sắc tố đậm màu và trải đều trên bề mặt tế bào, hàm lượng diệp lục tố đo được cũng cao hơn so với chuẩn (hình 1 C, F, O; hình 3).



Hình 2. Đường cong tăng trưởng của *C. lauderi* dưới tác động của giberelin

Hình 3. Hàm lượng diệp lục tố của *C. lauderi* dưới tác động của giberelin

Tốc độ tăng trưởng của *C. lauderi* trong các môi trường có bổ sung gibberelin cho kết quả thấp hơn so với chuẩn trong ngày 4-5. Đặc biệt trong môi trường có GA 10^{-7} g/l, tốc độ tăng trưởng có tăng lên ở ngày tiếp theo, nhưng sau đó cũng nhanh chóng suy giảm. Kết quả này cũng cho thấy GA 10^{-7} g/l ức chế tăng trưởng của *C. lauderi* (Bảng 1).

Bảng 1. Tốc độ tăng trưởng của *C. lauderi* Ralfs dưới tác động của gibberelin ở các nồng độ khác nhau

Môi trường	Tốc độ tăng trưởng hằng ngày				
	D4-D5	D5-D6	D6-D7	D7-D8	D8-D9
f/2	0,72 ± 0,03 ^e	0,14 ± 0,00 ^d	-0,09 ± 0,00 ^b	-0,29 ± 0,03 ^a	-0,02 ± 0,00 ^c
GA 10^{-6}	0,62 ± 0,03^{d*}	0,24 ± 0,01^{c*}	-0,13 ± 0,03 ^a	-0,03 ± 0,01 ^{b*}	-0,06 ± 0,01 ^b
GA 10^{-7}	0,16 ± 0,03^{c*}	0,31 ± 0,01^{d*}	-0,02 ± 0,03 ^b	-0,11 ± 0,01 ^{a*}	-0,02 ± 0,01 ^b
GA 10^{-8}	0,40 ± 0,03^{d*}	0,18 ± 0,01 ^c	-0,07 ± 0,03 ^b	-0,35 ± 0,01 ^a	-0,09 ± 0,01 ^{b*}
GA 10^{-9}	0,38 ± 0,03^{d*}	0,14 ± 0,01 ^c	-0,24 ± 0,03 ^{a*}	-0,06 ± 0,01 ^b	-0,02 ± 0,01 ^b

Các số trung bình trong hàng với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức p = 0,05 %.

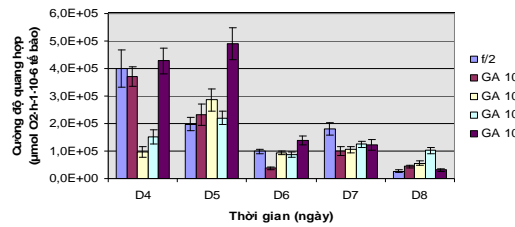
Dấu * chỉ sự khác biệt giữa các nghiệm thức với đối chứng.

3.3. Ảnh hưởng của gibberelin lên cường độ quang hợp/hô hấp

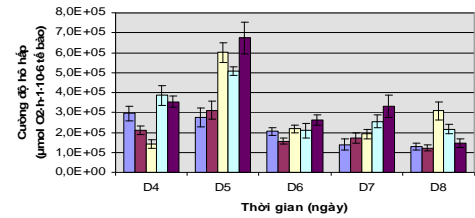
Trong môi trường có GA 10^{-6} g/l, cường độ quang hợp của *C. lauderi* lúc đầu được duy trì tương đương với chuẩn, sau đó giảm mạnh ở ngày 6 và 7. Với GA 10^{-9} g/l, hoạt động quang hợp diễn ra mạnh vào ngày 5, các ngày khác cũng ít khác biệt so với chuẩn. Đặc biệt, trong môi trường có GA 10^{-7} g/l và GA 10^{-8} g/l, vi tảo giảm quang hợp nhiều so với chuẩn ở ngày 4, nhưng duy trì tương đối ổn định trong những ngày sau đó (hình 4).

Cường độ hô hấp của *Ch. lauderi* dưới tác động của GA 10^{-6} g/l cũng được duy trì tương đương so với chuẩn.

Ở ngày 5, loài vi tảo này gia tăng hoạt động hô hấp trong hầu hết các môi trường có bổ sung gibberelin (ngoại trừ GA 10^{-6} g/l) (hình 5).



Hình 4. Cường độ quang hợp của *C. lauderi* dưới tác động của giberelin ở các nồng độ khác nhau



Hình 5. Cường độ hô hấp của *C. lauderi* dưới tác động của giberelin ở các nồng độ khác nhau

Nhìn chung, trong các môi trường có bổ sung giberelin, vi tảo đều tăng hô hấp, giảm quang hợp từ ngày thứ 4 đối với môi trường GA 10⁻⁷ g/l, GA 10⁻⁸ g/l và từ ngày thứ 5 đối với hai môi trường còn lại.

Như vậy, trong môi trường có giberelin, do bị hạn chế khả năng hấp thu dinh dưỡng nên vi tảo giảm sức tăng trưởng. Mặc dù vậy, giberelin lại có tác dụng kích thích tế bào vi tảo kéo dài kích thước ở tất cả các nghiệm thức. Đồng thời duy trì thể sắc tố, tăng hàm lượng diệp lục tố của vi tảo trong môi trường có GA 10⁻⁶ g/l và GA 10⁻⁹ g/l. Nguồn năng lượng cho các hoạt động này của vi tảo chủ yếu lấy từ hô hấp tế bào.

4. Kết luận

Trong tất cả các nghiệm thức, đường cong tăng trưởng của *C. lauderi* có dạng chữ S, đỉnh tăng trưởng đạt được ở ngày thứ 6 sau cấy chuyển.

Giberelin không thúc đẩy sự gia tăng mật độ tế bào trong dịch nuôi. Đặc biệt, môi trường có GA 10⁻⁷ g/l ức chế mạnh tăng trưởng của vi tảo.

Dưới ảnh hưởng của giberelin, hình thái *C. lauderi* có sự thay đổi, tế bào gia tăng kích thước, dài hơn so với chuẩn. Giberelin nồng độ 10⁻⁶ g/l và 10⁻⁹ g/l giúp duy trì ổn định hàm lượng diệp lục tố, thể sắc tố được duy trì, chiếm thể tích lớn trong tế bào và có màu sắc đậm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Trương Ngọc An (1993), *Phân loại tảo silic phù du biển Việt Nam*, Hà Nội: Khoa học và Kỹ thuật, tr. 3-201.
- [2]. Guillard GRL. (1975), *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates*. In: *Smith WL, Chanley MH (eds), Culture of marine invertebrate animals*, New York: Plenum Press, p. 29-60.
- [3]. Guillard GRL, Sieracki MS (2005), *Counting cells in cultures with the light microscope*. In: *Andersen RA (ed.) Algal culturing techniques*, Amsterdam: Elsevier Academic Press, p. 239-252.
- [4]. HELCOM (2001), *Manual for marine monitoring in the COMBINE programme of HELCOM. Part C. Programme for monitoring of eutrophication and its effects* [trực tuyến]. Baltic Marine Environment Protection Commission (Helsinki Commission) [Tham khảo ngày 21/07/2007]. Địa chỉ truy cập: <http://sea.helcom.fi/Monas/CombineManual2/contents.html>
- [5]. Lê Thị Phương Hồng, Bùi Trang Việt, Phạm Thành Hồ (1997), *Sự hiện diện và vai trò của các chất điều hoà tăng trưởng thực vật ở tảo lam *Spirulina platensis**. Tập san Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp, Trường Đại học Nông lâm TP. Hồ Chí Minh, số tháng 3: 69-72.
- [6]. Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Trọng Nho (2001), *Ảnh hưởng của một số yếu tố sinh thái lên sự phát triển của quần thể tảo *Chaetoceros calcitrans* Paulsen, 1905*, Tuyển tập công trình nghiên cứu khoa học công nghệ (1984-2004). Nxb. Nông nghiệp. tr.424-435.
- [7]. Johnston R. (1963), *Effects of gibberelins on marine algae in mixed cultures*, *Limnology and Oceanography*, 8(2): 270-275.
- [8]. Mouget JL, Tremblin G, Morant-Manceau A, Morançais M, Robert JM. (1999), *Long-term photoacclimation of *Haslea ostrearia* (Bacillariophyta): effect of irradiance on growth rates, pigment content and photosynthesis*, *European Journal of Phycology*, 34(2): 109-115.
- [9]. Bùi Trang Việt (2000), *Sinh lý thực vật đại cương. Phần II: Phát triển*, TP. HCM: Đại học Quốc gia TP. HCM, tr. 26-97.

- [10]. Wasmund N, Topp I, Schories D. (2006). *Optimising the storage and extraction of chlorophyll samples*. *Oceanologia*, 48(1): 125-144.
- [11]. Wood AM, Everroad RC, Wingard LM. (2005), *Measuring growth rates in microalgal cultures*. In: Andersen RA (ed.), *Algal culturing techniques*. Amsterdam: Elsevier Academic Press, p. 269-285.

Tóm tắt

Tìm hiểu ảnh hưởng của Gibberelin lên sự tăng trưởng ở vi tảo *Chaetoceros Lauderii* ralfs

Hiện nay, vi tảo là một đối tượng đang được chú ý nhiều trong nuôi trồng thủy hải sản. Tuy nhiên ở Việt Nam ít có các nghiên cứu về sinh lý vi tảo. Trong nghiên cứu này, chúng tôi bước đầu tìm hiểu ảnh hưởng của gibberelin (GA_3) lên sự tăng trưởng của loài tảo silic *Chaetoceros lauderii* Ralfs. Kết quả cho thấy GA_3 ở nồng độ 10^{-7} g/l ức chế tăng trưởng. Hình thái tế bào *Ch. lauderii* được duy trì ổn định dưới ảnh hưởng của gibberelin trong khoảng nồng độ 10^{-6} - 10^{-9} mg/l.

Abstract

Preliminary study of the influence of Gibberellin on *Chaetocercs lauderii* Ralfs growth

Microalgae physiology is a research field which has been investigated since several decades, but there are still now few researches and publications in Vietnam. In this study, our aim is to learn how gibberelins (GA_3) influences on growth and cell morphology of diatoms *Chaetoceros lauderii* Ralfs isolated from Can Gio coast (Ho Chi Minh City). We founded that GA_3 at 10^{-7} mg/l inhibited the growth. The cell morphology of *Ch. lauderii* was remained steady under GA_3 concentration range of 10^{-6} - 10^{-9} mg/l.